

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Супрун Елены Владимировны
на диссертационную работу Можаровской Полины Николаевны на тему:
**«Вольтамперометрическое определение структурных аналогов
Триазавирина® – нитротриазолотриазинов. Методология комплексного
исследования вероятных механизмов их электропревращений»**,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по
специальности 1.4.2. Аналитическая химия

Диссертационная работа Можаровской Полины Николаевны – одна из первых попыток систематического поиска взаимосвязи «структура – физико-химические свойства – биологическая активность» вещества (если таковая существует) для выявления потенциальных лекарственных средств путем комплексного исследования соединений-кандидатов методами вольтамперометрического анализа, высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), масс-спектрометрии, электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и молекулярного моделирования (молекулярного докинга, молекулярной динамики, квантово-химических расчетов). С помощью комплексного сравнительного исследования лекарственного противовирусного препарата Триазавирин® (**TZV**) и его структурных аналогов, натриевой соли 3-нитро-4-**оксо**-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**), натриевой соли 3-нитро-4-**оксо**-7-пропилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-*c*][1,2,4]триазинида дигидрата (**Pr**), натриевой соли 3-нитро-4-**оксо**-7-бутилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-*c*][1,2,4]триазинида дигидрата (**Bu**) и натриевой соли 3-нитро-4-**гидрокси**-7-метилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинида моногидрата (**TZV-OH**), прослежены закономерности между структурой ароматического нитросоединения, его электрохимическими свойствами и биологической активностью. Показано необратимое четырехэлектронное восстановление соединений **Et**, **Pr** и **Bu** в две ступени и **TZV-OH** в одну ступень до гидросиламинов, аминов и продуктов димерного строения через образование анион-радикалов. Электровосстановление всех соединений происходит в виде протонированных частиц в водной среде, и в виде ионных пар с катионами натрия - в апротонной среде. Интересно, что кинетика электропревращений исследованных структурных аналогов Триазавирин® различна: для **Et** и **TZV-OH** реакция лимитируется диффузией, у **Pr**, **Bu** – диффузией, осложненной предшествующей

химической реакцией. У соединений **Et** и **TZV-OH** установлено наибольшее количество интермедиатов радикальной природы, образующихся в процессе электровосстановления. Согласно расчетным данным, для **TZV-OH** требуется на одну стадию протонирования анион-радикала больше, чем для **Et**, **Pr**, **Bu**. По результатам вирусного слияния с модельными липидными мембранами *in vitro* выстроена последовательность, указывающая на возрастание возможной биологической активности **Et** > **TZV-OH** > **Pr**. Полученные результаты могут быть использованы для направленного синтеза соединений из ряда нитротриазолотриазинов, обладающих необходимой биологической активностью. В диссертационной работе предложены чувствительные методики количественного вольтамперометрического определения **TZV-OH** и **Et** в стандартных образцах. Актуальность, новизна и практическая значимость диссертационной работы Можаровской Полины Николаевны не вызывает сомнений.

Актуальность

В настоящее время, несмотря на прогресс в области медицины, генетических исследованиях, биотехнологии и фармацевтике, многие болезни, к сожалению, остаются не побежденными. Пережив пандемию COVID-19 из-за распространения коронавируса SARS-CoV-2, Мир осознал реальность угрозы распространения вирусных заболеваний и необходимость разработки новых противовирусных препаратов с поддержкой соответствующих научных исследований. С годами применение уже существующих противовирусных препаратов вызывает развитие резистентности, что также стимулирует разработку новых оригинальных лекарственных средств, обладающих большей биологической активностью и широким спектром действия.

Использование только биоинформатики для прогнозирования биологической активности потенциальных лекарственных препаратов зачастую не оправдывает себя из-за частого расхождения результатов с данными экспериментов *in vitro* и *in vivo*. Искусственный интеллект в данной области пока не в силах превзойти человека. Один из возможных путей решения задачи – это объединение результатов современных инструментальных методов анализа и цифровых технологий. Разработка стратегии комплексного исследования превращений соединений с

использованием современных инструментальных и цифровых методов ставит своей целью приблизить исследователей к пониманию связи между биологической активностью, физико-химическими свойствами вещества и структурой молекулы, что, в свою очередь, позволит химикам-синтетикам осуществлять направленный синтез соединений с нужными биологическими свойствами. Успешная комбинация нескольких методов анализа позволит получить результаты, более точно прогнозирующие биологическую активность исследуемого вещества, то есть коррелирующие с данными биохимических и биологических исследований.

Научная новизна исследования

Изучены особенности электропревращения ароматических нитросоединений **Et**, **Pr**, **Bu** и **TZV-OH**. Выявлены закономерности влияния pH-среды и природы заместителей на электровосстановление исследуемых веществ. Показано, что электропревращения структурных аналогов Триазавирин® – **TZV-OH**, **Et**, **Pr** и **Bu** – протекают по различным путям. Показано, что необратимое четырехэлектронное восстановление **Et**, **Pr**, **Bu** протекает в две ступени, а у **TZV-OH** в одну, через образование анион-радикалов до гидроксиламинов, аминов и продуктов димерного строения. Электровосстановление всех соединений происходит в виде протонированных частиц в водной среде, в апротонной среде – в виде ионных пар с катионами натрия. Продемонстрировано, что, несмотря на структурную схожесть соединений, кинетика их электропревращений различна: для **Et** и **TZV-OH** реакция лимитируется диффузией, у **Pr**, **Bu** – диффузией, осложненной предшествующей химической реакцией. Установлено наибольшее количество интермедиатов радикальной природы, образующихся в процессе электровосстановления, у **Et** и **TZV-OH**. Выделены и охарактеризованы промежуточные и конечные продукты электровосстановления изучаемых соединений.

Полученные результаты электрохимических исследований сопоставлены с данными других инструментальных методов анализа (ВЭЖХ, масс-спектрометрии, ЭПР) и молекулярного моделирования. Впервые проведено комплексное физико-химическое исследование группы нитроароматических соединений, рассматриваемых в качестве потенциальных противовирусных лекарственных препаратов.

Теоретическая и практическая значимость

По результатам комплексного исследования установлены механизмы реакций электровосстановления соединений **Et**, **Pr**, **Bu** и **TZV-ОН**. Предложен комплексный подход к исследованию механизмов превращений нироароматических соединений и их биологической активности в качестве противовирусных препаратов.

Разработана методика вольтамперометрического определения **TZV-ОН** в стандартном образце на стеклоуглеродном электроде (СУЭ) при pH 2,0 и 7,0. Диапазон линейности в обоих случаях составил 10–300 мг/дм³, предел обнаружения (ПО) 1,3 и 1,7 мг/дм³ соответственно. Предел количественного определения (ПКО) 4,1 и 5,2 мг/дм³ соответственно. В рамках выбранного диапазона концентраций была доказана правильность.

Разработана методика вольтамперометрического определения **Et** в стандартном образце на СУЭ и толстопленочном углеродсодержащем электроде (ТУЭ) при pH 7,0. Диапазон линейности на СУЭ составил 10–300 мг/дм³, ПО 1,3 и ПКО 4,0 мг/дм³. С использованием ТУЭ диапазон линейности 10–500 мг/дм³, ПО 1,2 и ПКО 3,6 мг/дм³. Созданные методики вольтамперометрического определения **TZV-ОН** и **Et** были опробованы, признаны пригодными в компании ООО «Завод Медсинтез» и будут внедрены в технологический процесс в случае промышленного производства потенциальных лекарственных противовирусных препаратов.

Структура диссертации

Диссертационная работа Можаровской П.Н. выстроена классическим образом и написана научным языком. Диссертация изложена на 133 печатных страницах и содержит 32 рисунка и 15 таблиц. Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения и списка литературы, включающего 172 источника, отражающего историческое и современное состояние области исследования в России и в мире.

Достоверность полученных результатов

Достоверность основных научных результатов диссертации Можаровской П.Н. обеспечена использованием современных физико-химических методов исследования и анализа, результатами анализа современных отечественных и

зарубежных научных трудов по исследуемой проблематике, корректно примененными методами сбора и обработки данных.

Публикации

Основные результаты диссертационной работы Можаровской П.Н. были опубликованы в 13 научных работах, в том числе в 3 статьях в рецензируемых научных журналах, определенных ВАК РФ и Аттестационным советом УрФУ и входящих в международную библиографическую базу Scopus и WoS, и 10 тезисах докладов на всероссийских и международных конференциях.

Автореферат

Автореферат диссертации Можаровской П.Н. полностью отражает основную суть работы и по оформлению соответствует установленным требованиям.

Общее впечатление, вопросы и замечания

Диссертация Можаровской П.Н. представляет собой многостороннее современное исследование, выполненное на высоком теоретическом и инструментальном уровне. Вдохновляет цель поиска взаимосвязи «структура – физико-химические свойства – биологическая активность» вещества, поставленная автором. В заслугу автору можно поставить выбор ароматических ниросоединений в качестве объектов исследования, а также широкий спектр используемых инструментальных и биоинформатических методов анализа (вольтамперометрия, ВЭЖХ, масс-спектрометрии, ЭПР и молекулярное моделирование). Известно, что превращения нитроароматических соединений на поверхности электродов – это сложный процесс, зависящий от материала электрода и условий проведения экспериментов (прежде всего рН фонового электролита). Особого внимания заслуживает результат по установлению механизмов реакций электровосстановления ароматических нитросоединений **Et**, **Pr**, **Bu** и **TZV-OH** с установлением продуктов реакций.

Несмотря на общее положительное впечатление, к работе имеются некоторые **замечания и рекомендации:**

1. В обзоре литературы отсутствуют примеры вольтамперограмм восстановления нитроароматических соединений, позволяющие наглядно продемонстрировать аналитические сигналы, относящиеся к описанным превращениям. Не понятно при каком потенциале какая реакция происходит.

2. В обсуждении результатов нет обоснования необратимости вольтамперометрического восстановления исследуемых соединений, а также нет описания всех зарегистрированных на циклических вольтамперограммах сигналов, относящихся к восстановлению ароматической нитрогруппы и последующему окислению/восстановлению продуктов восстановления. Выбор аналитического сигнала для последующей работы должен быть обоснован.

3. В выводах с целью обобщения было бы полезно соотнести полученные результаты (различия в механизмах реакций восстановления, потенциалов максимумов пиков) с электронодонорной или электроноакцепторной природой заместителей и их положением в рассматриваемых нитроароматических соединениях.

4. Наличие на вольтамперограммах четких сигналов редокс пары, отвечающей за окисление и последующее восстановление продуктов восстановления ароматической нитрогруппы позволяет проводить определение исследуемых соединений в инверсионном режиме. Были ли сделаны такие эксперименты, особенно при разработке методик количественного определения **TZV-OH** и **Et**?

Заключение

На основании вышесказанного считаю, что диссертационная работа Можаровской П.Н. «Вольтамперометрическое определение структурных аналогов Триазавирин® - нитротриазолотриазинов. Методология комплексного исследования вероятных механизмов их электропревращений» по актуальности, объему выполненной работы, научной новизне, теоретической и практической части, уровню обсуждения достоверности полученных результатов, обоснованности научных положений и выводов полностью соответствует требованиям п.9-14 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Уральский

федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», предъявляемым к кандидатским диссертациям, является научно-квалификационной работой, а ее автор, Можаровская Полина Николаевна, заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2. Аналитическая химия.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории электрохимических методов кафедры аналитической химии химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

119991, Москва, Ленинские горы, дом 1, строение 3, ГСП-1, МГУ, Химический факультет

E-mail: lenasuprun@mail.ru

Тел.: 8 (495) 939 54 68

Елена

Владимировна

Супрун

Супрун

И.о. декана Химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», доктор химических наук, профессор

Сергей Сергеевич

Карлов

Подпись Супрун Е.В. заверено



15» ноября 2024 г.

